



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑩ Off nl gungsschrift
DE 44 24 112 A 1

②1 Aktenzeichen: P 44 24 112.7
②2 Anmeldetag: 8. 7. 94
②3 Offenlegungstag: 11. 1. 96

⑥1 Int. Cl. :
B 01 L 3/00
G 01 N 35/00
B 65 D 85/42
B 29 C 69/00
B 29 C 51/10
B 65 D 81/03
// B 65 D 1/38

DE 44 24 112 A 1

⑦1 Anmelder:

Raytest, Isotopenmeßgeräte GmbH, 75334
Straubenhardt, DE

⑦4 Vertreter:

Puschmann, H., Dipl.-Ing. (FH), Pat.-Anw., 80331
München

⑦2 Erfinder:

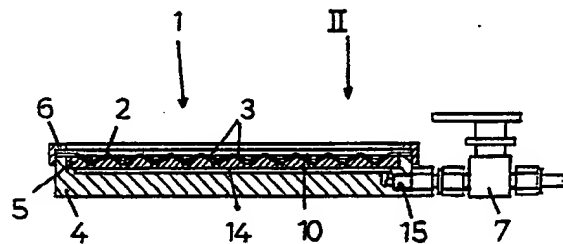
Dietzel, Günther, Dipl.-Ing., 75334 Straubenhardt, DE

⑤6 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht zu ziehende Druckschriften:

DE	18 08 491 B2
DE-AS	16 79 973
DE	42 17 868 A1
DE	40 39 572 A1
DE	40 22 792 A1
DE	36 40 543 A1
DE	92 03 583 U1
DE	77 00 749 U1
DE	36 18 884
US	49 02 481
US	46 42 220
EP	04 35 380 A2

⑤4 Verfahren zur Herstellung eines Probenträgers

⑤7 Die beschriebene Erfindung betrifft ein Verfahren, eine Vorrichtung zur Herstellung eines Probenträgers (18) sowie den Probenträger (18) selbst, wobei durch ein wenig aufwendiges Verfahren mittels einer Vorrichtung ein leicht zu handhabender Probenträger (18) für die Messung von insbesondere radioaktiv markierten Proben (19) zur Verfügung gestellt wird, bei dem die Nachweisempfindlichkeit von ^{14}C β -Strahlung erheblich verbessert ist. Einen solchen Probenträger (18) mit allseits von Folien (2, 20) eingeschlossene Probenplätze (8) erhält man, indem eine Folie (2) mit Vertiefungen (3) versehen wird, in jede dieser Vertiefungen (3) eine Probe (19) verbracht wird, auf die die Proben (19) tragende Folie (2) eine zweite Folie (20) aufgelegt wird und/oder die Folien (2, 20) miteinander verbunden werden, vgl. Fig. 1.



DE 44 24 112 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung eines Probenträgers mit einer Vielzahl individueller Probenplätze zur Aufnahme von Proben sowie den Probenträger selbst.

Probenträger mit einer Vielzahl von Probenplätzen finden bei der Durchführung der Blutgruppenserologie, bei Antibiotika-Testreihen und ferner bei Laborarbeiten, bei denen geometrische Verdünnungsreihen erforderlich sind, Verwendung. Solche Probenträger, auch Mikrotitrationsplatten genannt, wie sie aus dem DE GM 88 14 7622 bekannt sind, werden als Spritzlinge aus einem klarsichtigen Plastikmaterial mit einer Vielzahl von Vertiefungen als Probenplätze zur Aufnahme der Proben ausgeführt. In die einzelnen Probenplätze werden die Proben manuell oder automatisch pipettiert, gefriergetrocknet oder abgedampft.

Die Herstellung der bekannten Probenträger, oftmals auch in mehrteiligen Ausführungen, verlangt eine hohe Genauigkeit bei der Durchführung des Spritzvorgangs und eine sorgfältige Endkontrolle, da es sich bei den Probenträgern um Präzisionsteile handelt. Darüberhinaus sind aufwendige hygienische Maßnahmen bei der Herstellung und Lagerung nötig, um eine Verunreinigung der Probenträger und damit eine Verfälschung späterer Meßreihen zu verhindern.

Mit diesen bekannten Probenträgern erweist sich ferner die Messung von ^{14}C -radioaktiv markierten Proben mittels Radioluminographie-Bildplatten als äußerst schwierig. Die zu messende ^{14}C β -Strahlung durchdringt nicht den Boden oder die Wand bekannter Probenträger. Eine Exposition der Bildplatte kann deshalb nur an der offenen Oberseite erfolgen. Nachteilig ist bei einem solchen Vorgehen, daß die nach oben offenen Probenplätze von der Bildplatte überdeckt werden und es durch Reaktionen zwischen Bildplatte und Proben zu Verfälschungen der Messungen kommen kann.

Insbesondere erweist sich bei den bekannten Probenträgern als äußerst problematisch, eine Messung von ^{14}C -radioaktiv markierten Proben mittels Radioluminographie-Bildplatten bei kleinen Probenvolumina durchzuführen. So betragen bei der Microbore-HPLC (High Pressure Liquid Chromatographie-Hochdrucksäulenchromatographie) die Probenvolumina ca. 1–50 Mikroliter oder bei der Kappilar-Elektrophorese 1–100 Nanoliter, deren geringe Mengen die Exposition der Bildplatte an der offenen Oberseite erheblich erschweren.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, mittels eines wenig aufwendigen Verfahrens einen leicht zu handhabenden Probenträger für die Messung von radioaktiv markierten Proben, insbesondere auch kleiner Probenvolumina, zur Verfügung zu stellen, bei dem die Nachweisempfindlichkeit von ^{14}C β -Strahlung erheblich verbessert ist und betrifft sowohl das Verfahren und eine Vorrichtung als auch den hiermit herstellbaren Probenträger.

Die vorstehende Aufgabe wird für das Verfahren gemäß Patentanspruch 1, für die Vorrichtung gemäß Patentanspruch 12 und für einen Probenträger gemäß Anspruch 7 gelöst.

Weitere Merkmale der Erfindung ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Das Verfahren zur Herstellung eines Probenträgers nach der Erfindung, bei dem

- a) eine Folie mit einer Vielzahl individueller Vertiefungen versehen wird,

- b) in jeder dieser Vertiefungen eine Probe verbracht wird,
- c) auf die die Proben tragende Folie eine zweite, die Proben abdeckende Folie aufgelegt wird
- d) und/oder die Folien miteinander verbunden werden,

vermeidet aufwendige Formen für Spritzlinge. Ferner wird kostengünstig als Ausgangsmaterial lediglich eine handelsübliche Folie zur Herstellung eines Probenträgers verwendet, der allseitig geschlossen ist, wodurch es bei seinem Gebrauch zu keinen Reaktionen zwischen dem Probenmaterial und der Umgebung und dadurch zu Verfälschungen der Messung kommen kann. Eine entsprechende Größenwahl der zu erstellenden Vertiefungen erlaubt eine individuelle und flexible Anpassung an die vorgegebenen Messungen.

Diese Vertiefungen sind in vorteilhafter Weise dadurch erstellt, daß die Folie in Anlage auf einen Träger gebracht wird, der Negativformen der Vertiefungen aufweist, daß darauffolgend die Negativformen evakuiert werden, wobei durch den Luftdruck in der Folie die Vertiefungen gemäß den Negativformen entstehen. Bei der Verwendung handelsüblicher, dünner Folien legen diese sich nach der Evakuierung glatt an die Oberfläche der Negativformen an, wodurch individuelle Probenplätze genau definierter Größe entstehen. Nach Erstellen der Vertiefungen ist nach der Erfindung vorgesehen, daß die Evakuierung der Negativformen für den folgenden Verfahrensschritt b) beibehalten wird und vor dem Verfahrensschritt c) der durch die Evakuierung entstandene Unterdruck entspannt wird, während die Folie auf dem Träger verbleibt.

Diese Maßnahmen stellen eine einfache Handhabung sicher, indem auch während des Pipettiervorganges die Probenplätze formstabil verbleiben. Nach dem Pipettiervorgang und dem Entspannen des Überdrucks werden dann mit einer zweiten Folie oder auch mit einem Überstand der ersten Folie die Probenplätze abgedeckt, wobei die Folien miteinander verklebt werden können. Damit ist ein Probenträger für eine Vielzahl von Proben in die Form eines geschlossenen, flächenförmigen Umschlags gebracht.

Nach der Erfindung ist weiter vorgesehen, daß die durch Leitungen verbundenen Negativformen miteinander kommunizieren und über eine ein Ventil aufweisende Sammelleitung gleichzeitig evakuiert oder entspannt werden. Auf einfache Weise können so alle Vertiefungen rasch mittels nur einer Evakuierungsvorrichtung hergestellt werden. Durch Schließen des Ventils kann nach der Evakuierung der Unterdruck auch nach Abtrennen der Evakuierungsvorrichtung für die anschließenden Verfahrensschritte aufrecht gehalten werden.

Insbesondere ist nach der Erfindung ein Verbringen flüssiger Proben in die Vertiefungen der Folie und ein daran anschließendes Verflüchtigen des Lösungsmittels erheblich erleichtert, da ein Verflüchtigen des Lösungsmittels durch Gefrier Trocknung oder Abdampfung möglich ist.

Nach der Erfindung ist die Verwendung einer Klarsichtfolie von einer Dicke zwischen 1 μm und 3 μm , bevorzugt 2 μm , vorgesehen. Die Verwendung einer solchen Folie setzt einer zur Auswertung herangezogenen ^{14}C β -Strahlung kein oder nur ein vernachlässigbar geringen Widerstand entgegen. Damit ist eine sehr genaue Messung ^{14}C -radioaktiv markierter Proben mittels Radioluminographie-Bildplatten ermöglicht.

Eine diesen Ansprüchen genügend Folie wird z. B. unter dem geschützten Namen Hostaphan der Firma Farbwerke Hoechst AG vertrieben.

Der erfindungsgemäße Probenträger 1 mit einer Vielzahl individueller Probenplätze zur Aufnahme von Proben weist allseits von einer oder mehreren Folien eingeschlossene Probenplätze auf. Bei einem solchen Probenträger kann es naturgemäß zu keinen Wechselwirkungen zwischen den Proben und der Umgebung kommen, wodurch er äußerst einfach in seiner Handhabung ist. Darüberhinaus ist er ganz besonders zur Aufnahme von radioaktiv markierten Proben für eine Messung mittels Radioluminographie-Bildplatten geeignet, da eine doppelseitige Belegung des Probenträgers mit Radioluminographie-Bildplatten ermöglicht ist. Damit sind die Proben bei geringer Selbstabsorption — Lösungsmittel verdampfen — in eine für eine Radioaktivitätsmessung äußerst günstige Lage gebracht.

Für eine einfache und sichere Pipettierung der Proben auf einen Probenträger nach der Erfindung ist es vorteilhaft, daß die Folie Vertiefungen als Probenplätze zur Aufnahme von Proben aufweist und daß mit einer zweiten Folie die Vertiefungen überdeckt und die Proben eingeschlossen sind. Bevorzugt ist dabei, daß die Folie eine Klarsichtfolie ist, die eine Dicke zwischen 1 µm und 3 µm aufweist, bevorzugt 2 µm aufweist. Ein Verfließen der Proben bei der Pipettierung der Proben auf die Folie ist durch die Vertiefungen ausgeschlossen.

Beträgt die Höhe des Probenträgers über die Probenplätze zwischen 1 mm und 2 mm, ist er besonders für geringe Probenvolumina geeignet, wobei bevorzugt die Volumina der Vertiefungen zwischen 1 nL und 1 mL liegen.

Für die Herstellung des Probenträgers nach der Erfindung ist die Vorrichtung mit einem plattenförmigen Träger für die Folie vorgesehen, der eine Vielzahl den Probenplätzen entsprechenden Negativformen aufweist, die evakuierbar sind. Dabei sind bevorzugt die Negativformen als Trichter ausgebildet, die an ihrer Spitze Absaugöffnungen aufweisen und sind die Absaugöffnungen über Leitungen mit einer ein Ventil aufweisenden Sammelleitung für eine Evakuierung verbunden.

Mit einer solchen Vorrichtung ist eine einfache und rationelle Herstellung der Probenträger gemäß dem Verfahren nach der Erfindung sichergestellt.

Letzlich ist bei der Vorrichtung vorgesehen, daß der Träger in einer Grundplatte gehalten ist, die unter den Vertiefungen des Trägers einen Freiraum aufweist, mit dem die Absaugöffnungen in den Vertiefungen über Leitungen verbunden sind und der über eine ein Ventil aufweisende Sammelleitung evakuierbar ist und kann durch einen auf die Grundplatte aufsetzbaren Rahmen der Träger mit einer aufliegenden Folie und die Grundplatte zu einer handhabbaren Einheit verbunden sein.

Die Erfindung wird beispielhaft an Hand der Zeichnung erläutert. Im Einzelnen zeigen:

Fig. 1 in einem Schnitt eine Vorrichtung zur Herstellung eines Probenträgers nach der Erfindung,

Fig. 2 einen vergrößerten Ausschnitt aus Fig. 1,

Fig. 3 eine Draufsicht gemäß Pfeil II in Fig. 1 und

Fig. 4 einen vergrößerten Schnitt durch einen fertigen Probenträger 1 nach der Erfindung.

In den Fig. 1 bis 3 ist eine Vorrichtung 1 zur Herstellung einer Probenträger 5 gemäß Fig. 4 aus einer Folie 2 mit einer Vielzahl von individuellen Vertiefungen 3 zur Aufnahme einzelner Proben 19 gezeigt. Die Vorrichtung 1 umfaßt eine Grundplatte 4, in der ein Träger 5 für die

Folie 2 gehalten ist, einen Rahmen 6, mit dem der Träger 5 mit aufliegender Folie 2 und der Grundplatte 4 zu einer handhabbaren Einheit zusammengefaßt sind, sowie in Ventil 7, an das eine nicht dargestellt Evakuierungsanlage, z. B. eine Pumpe, anzuschließen ist. Der Träger 5 ist mit einer Vielzahl von Probenplätzen 8 entsprechenden Negativformen 10 versehen, die hier als Trichter 11 ausgebildet sind. An der Spitze der Trichter 11 sind Absaugöffnungen 12 vorgesehen, die über Leitungen 13 und einen in der Grundplatte 4 vorgesehenen Freiraum 14 miteinander kommunizierend verbunden sind. Der Freiraum 14 und damit gleichzeitig die Negativformen 10 werden über eine Sammelleitung 15 und das Ventil 7 evakuiert. Aufgrund ihrer Elastizität wird sich hierbei die Folie 2 wie gezeigt an die Negativformen 10 des Trägers 5 anlegen. Wird das Ventil 7 geschlossen, kann die ganze Einheit an eine Pipettier Vorrichtung weitergegeben werden, in der die Vertiefungen 3 mit den entsprechenden Proben 19 versehen werden. Nach Verflüchtigen eines mit den Proben 19 verwendeten Lösungsmittels wird das Ventil 7 geöffnet. Nach Öffnen des Ventils 7 kommt es zu einem Druckausgleich, wonach eine zweite Folie 20 oder ein Folienüberstand der Folie 2 über die offenen Probenplätze 8 gelegt und mit der Folie 2 verbunden, z. B. verklebt oder verschweißt wird. Danach kann die Probenträger 18 der Vorrichtung 1 für die durchzuführenden Messungen entnommen werden.

Es ist aber auch möglich, daß der Unterdruck erst nach dem Auflegen der zweiten Folie durch Öffnen des Ventils entspannt wird.

Bei einem derart geschaffenen Probenträger 18 gemäß Fig. 4 sind die einzelnen Proben 19 gänzlich von einer Folie oder Folien (2, 20) eingeschlossen. Die Dicke der Folien (2, 20) kann zwischen 1 µm und 3 µm betragen, wobei hier eine Dicke von 2 µm bevorzugt ist. Die Höhe h des Probenträgers 18 liegt über die Probenplätze 8 zwischen 1 mm und 2 mm und die Volumina der Vertiefungen betragen für eine Kapillar-Elektrophorese oder eine Microbore-HPLC zwischen 1 nL und 1 mL.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Probenträgers mit einer Vielzahl individueller Probenplätze zur Aufnahme von Proben, gekennzeichnet durch die Verfahrensschritte,

- a) daß eine Folie (2) mit einer Vielzahl individueller Vertiefungen (3) versehen wird,
- b) daß in jede dieser Vertiefungen (3) eine Probe (19) verbracht wird,
- c) daß auf die die Proben (19) tragende Folie (2) eine zweite, die Proben (19) abdeckende Folie (20) aufgelegt wird
- d) und/oder die Folien (2, 20) miteinander verbunden werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß im Verfahrensschritt a) die Folie (2) in Anlage auf einen Träger (5) gebracht wird, der Negativformen (10) der Vertiefungen (3) aufweist, darauf folgend die Negativformen (10) evakuiert werden, wobei durch den Luftdruck in der Folie (2) die Vertiefungen (3) gemäß den Negativformen (10) entstehen.

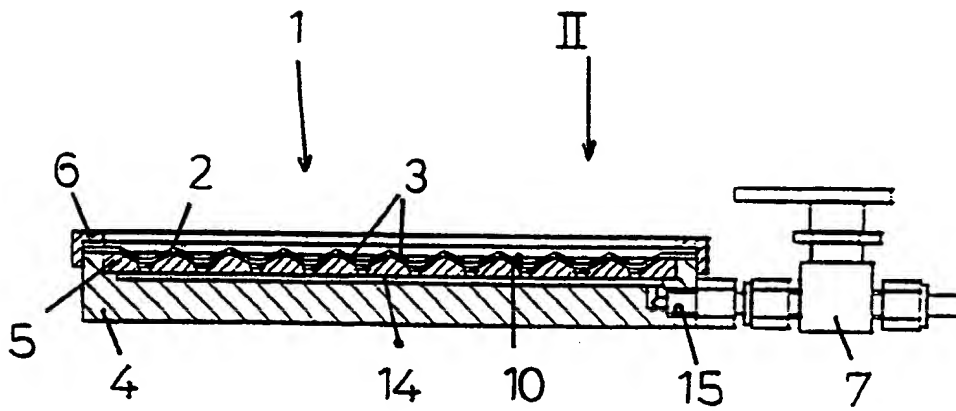
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Evakuierung der Negativformen (10) für den folgenden Verfahrensschritt b) beibehalten wird und vor dem Verfahrensschritt c) oder

nach dem Verfahrensschritt c) der durch die Evakuierung entstandene Unterdruck entspannt wird, während die Folie (2) bzw. die Folien (2, 20) auf dem Träger (5) verbleibt bzw. verbleiben.

4. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 2 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die durch Leitungen (13) verbundenen Negativformen (10) miteinander kommunizieren und über eine ein Ventil (7) aufweisende Sammelleitung (15) gleichzeitig evakuiert oder entspannt werden. 5 10
5. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet durch ein Verbringen flüssiger Proben in die Vertiefungen (3) der Folie (2) und ein daran anschließendes Verflüchtigen des Lösungsmittels. 15
6. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, gekennzeichnet durch die Verwendung einer Klarsichtfolie von einer Dicke zwischen 1 µm und 3 µm, bevorzugt 2 µm.
7. Probenräger mit einer Vielzahl individueller Probenplätze zur Aufnahme von Proben, gekennzeichnet durch allseits von einer oder mehreren Folien (2, 20) eingeschlossene Probenplätze (8). 20
8. Probenräger nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine Folie (2) Vertiefungen (3) als Probenplätze (8) zur Aufnahme von Proben (19) aufweist und daß mit einer zweiten Folie (20) die Vertiefungen (3) überdeckt und die Proben (19) eingeschlossen sind. 25
9. Probenräger nach den Ansprüchen 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Folie (2) eine Klarsichtfolie ist, die eine Dicke zwischen 1 µm und 3 µm aufweist, bevorzugt 2 µm. 30
10. Probenräger nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Höhe (h) des Probenrägers (18) über die Probenplätze (8) zwischen 1 mm und 2 mm beträgt. 35
11. Probenräger nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Volumina der Vertiefungen (3) zwischen 1 nL und 1 mL liegen. 40
12. Vorrichtung zur Herstellung eines Probenrägers aus Folie mit einer Vielzahl individueller Probenplätze zur Aufnahme von Proben, gekennzeichnet durch einen plattenförmigen Träger (5) für die Folie (2), der eine Vielzahl der Probenplätzen (8) entsprechenden Negativformen (10) aufweist, die evakuierbar sind. 45
13. Vorrichtung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Negativformen (10) als Trichter (11) ausgebildet sind, die an ihrer Spitze Absaugöffnungen (12) aufweisen. 50
14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Absaugöffnungen (12) über Leitungen (13) mit einer ein Ventil (7) aufweisenden Sammelleitung (15) für eine Evakuierung verbunden sind. 55
15. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 13 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (5) in einer Grundplatte (4) gehalten ist, die unter den Vertiefungen (3) des Trägers (5) einen Freiraum (14) aufweist, mit dem die Absaugöffnungen (12) in den Vertiefungen (3) über Leitungen (13) verbunden sind und der über eine ein Ventil (7) aufweisende Sammelleitung (15) evakuierbar ist. 60
16. Vorrichtung nach Anspruch 15, gekennzeichnet durch einen auf die Grundplatte (4) aufsetzbaren Rahmen (6), der den Träger (5) mit einer aufliegen-

den Folie (2) und der Grundplatte (4) zu einer handhabbaren Einheit verbindet.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen



* Fig. 1

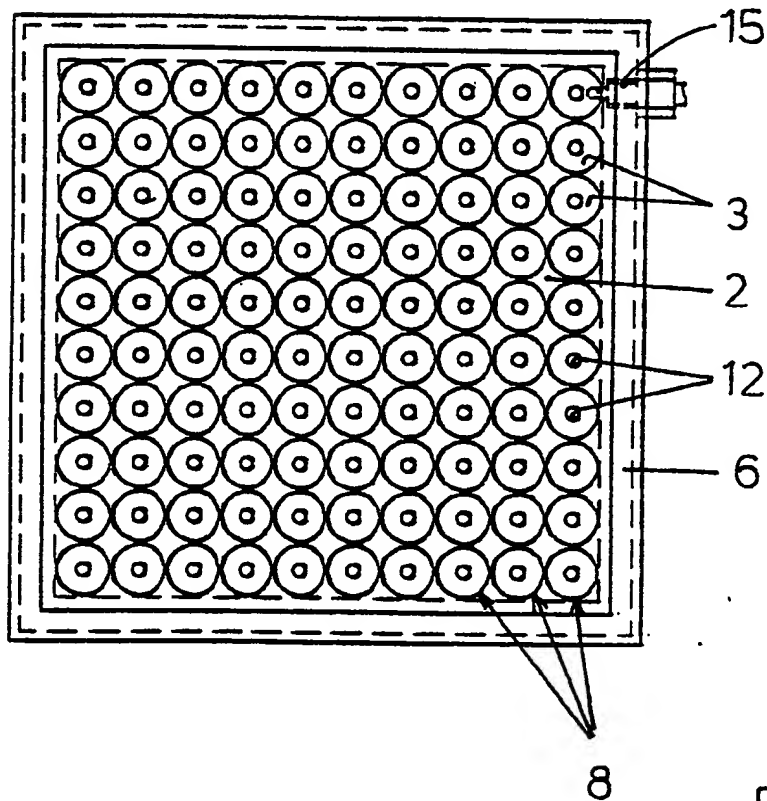


Fig. 2

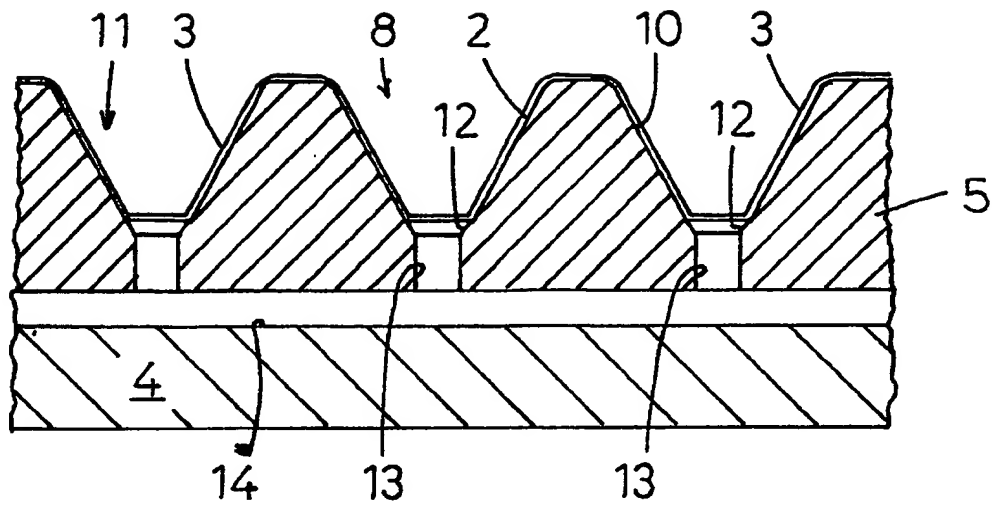


Fig. 3

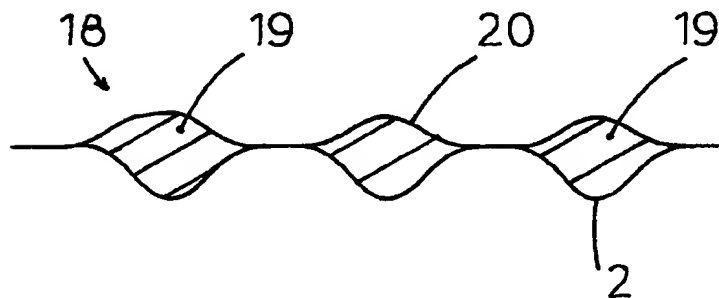


Fig. 4